Vergleich zwischen biochemischer und histochemischer Hormonrezeptorenbestimmung bei Mammakarzinomen

D.		Manfreda ^a
H.		Aigner ^a
G.		Daxenbichler ^b
G.		Pflanzl ^c
M.		Redtenbacher ^a

^aChirurgische Abteilung, Landeskrankenhaus Klagenfurt (Vorstand: Univ.-Doz. Dr. M. Redtenbacher) ^bUniversitäts-Frauenklinik Innsbruck (Vorstand: Univ.-Prof. Dr. O. Dapunt) ^cPathologisches Institut, Landeskrankenhaus Klagenfurt (Vorstand: Prim. Dr. J. Piribauer)

Schlüsselwörter

Mammakarzinom
Hormonrezeptoren
Bestimmungsmethoden
Vergleich

Zusammenfassung

Die Hormonsensitivität von Mammakarzinomen gibt einerseits Hinweise auf die Prognose und bestimmt andererseits das therapeutische Vorgehen bei Auftreten von Metastasen. Auch für die Wahl einer Adjuvanttherapie dürfte sie von Bedeutung sein. Die Bestimmung der Hormonrezeptoren aus dem Tumorgewebe ist daher unserer Meinung nach zumindest gleich wichtig wie die histologische Typisierung des Karzinoms. Da in letzter Zeit ein Trend zur sogenannten histochemischen Hormonrezeptorenbestimmung zu verzeichnen war, welche wesentlich weniger aufwendig als die biochemische (quantitative) Methode ist, wurde im Rahmen einer Parallelbestimmung der Wert dieses fluoreszenzmikroskopischen Assays untersucht. Bei 157 Patienten der letzten drei Jahre waren in 45% die Ergebnisse der Östrogenrezeptorenbestimmung und bei 29 Patienten bei 50% die Ergebnisse der Progesteronrezeptorenbestimmung völlig konträr, so daß man die histochemische Methode als wahrscheinlich nicht repräsentativ bezeichnen muß. Auch bestehen ernste Zweifel, ob damit überhaupt der Hormonrezeptor nachgewiesen werden kann. Ein Verzicht auf die biochemische Rezeptorbestimmung scheint daher derzeit nicht vertretbar.

Sonderdruckbestellungen an: Dr. D. Manfreda, Chirurgische Abteilung, Landeskrankenhaus, St.-Veiter-Str. 47, A-9020 Klagenfurt

Summary and Key Words

The hormonal sensitivity of breast cancer on one hand indicates the prognosis and on the other determines the therapeutical procedure when metastases appear. It also seems to be important in the choice of adjuvant therapy. Therefore the analysis of hormonal receptors in our opinion is at least as important as the histological typification of the carcinoma.

As there was a trend recently showing up the so-called histochemical steroid-receptor-assay which is much less complicated than the biochemical (quantitative) method, we investigated the value of this fluorescence-microscopical assay by means of parallel determinations. In the results of 157 patients of the last three years we found differences in 45% of all oestrogen-receptor-determinations and in 50% of 29 progesterone-receptor-determinations. This indicates that the histochemical assay is most probably not representative. There is serious doubt about the

possibility to document the hormone receptor by this method at all. Therefore it does not seem advisable at the moment to waive the biochemical receptor determination.

Breast cancer – Steroid receptors – Determination methods – Comparison

Einführung

Der Hormonrezeptorenbefund beim Mammakarzinom ist einerseits für die Prognosebeurteilung von großer Bedeutung [1-3]; er bestimmt darüber hinaus aber auch das therapeutische Vorgehen bei Auftreten von Rezidiven bzw. Fernmetastasen [4-5] und dürfte für die Wahl einer Adjuvanttherapie in Zukunft entscheidend werden. Da die bisher übliche biochemische Methode, bei der der Rezeptorgehalt im Tumorgewebe quantitativ gemessen wird, relativ aufwendig ist (die Bestimmung erfolgt nur an wenigen Zentren; Tumorgewebe muß tiefgekühlt gelagert bzw. versandt werden), wurde und wird verständlicherweise nach einer einfacheren Bestimmungsmethode gesucht.

Bereits seit Jahren sind im Handel relativ preisgünstige Testsätze mit Fluoreszin-Derivaten zur sogenannten histochemischen Östrogen- (und auch Progesteron-) Rezeptorenbestimmung erhältlich. Im Rahmen einer österreichweiten Umfrage, die von der Arbeitsgruppe «Mammakarzinom» der Arbeitsgemeinschaft für Chirurgische Onkologie (der Österr. Gesellschaft für Chirurgie) durchgeführt worden war, fiel auf, daß an einzelnen Krankenhäusern die histochemische Methode ausschließlich zur Anwendung gelangt bzw. von der biochemischen Bestimmung abgegangen worden war. Auf dem Wege einer Parallelbestimmung wollten wir daher den Wert der «Schnellmethode» untersuchen.

Material und Methode

Von 157 Patienten mit Mammakarzinomen der letzten drei Jahre wurden sowohl der quantitative Östrogen- als auch der Progesteronrezeptorenbefund an der Universitäts-Frauenklinik Innsbruck ermittelt. Die Untersuchung nach der Aktivkohlemethode von Korenmann [6, 7] beruht auf dem Prinzip, aus homogenisiertem Tumorgewebe ein Zytosol herzustellen, welches mit einem radioaktiven Steroid inkubiert wird. Dieses nun radioaktiv markierte Rezeptorenprotein wird nach der Trennung von Plasmaproteinen (mittels Elektrophorese) und vom freien Steroid (mittels Adsorption des freien Steroids an Dextran-beschichtete Aktivkohle) quantitativ gemessen (Messung der Radioaktivität im Flüssigkeitsszintillationszähler und Berechnung der Anzahl der spezifischen Bindungsstellen mit dem SCATCHARD Plot [8]). Der Rezeptorgehalt wird in 112

Manfreda et al.: Vergleich der Rezeptorbestimmungsmethoden beim Mammakarzinom

fmol/mg Tumorprotein angegeben, und als östrogenrezeptor-positiv werden Werte ab 10 fmol/mg, als progesteronrezeptor-positiv Werte ab 25 fmol/mg bezeichnet. Von allen Patienten wurde jeweils aus dem gleichen Tumor am Pathologischen Institut des Landeskrankenhauses Klagenfurt auf histochemischem Wege der Östrogenrezeptor (bei den letzten 29 Patienten auch der Progesteronrezeptor) bestimmt. Dabei soll ein fluoreszierendes Östrogen- bzw. Progesteronkonjugat an den Rezeptor gebunden und dieser dadurch im Fluoreszenzmikroskop sichtbar gemacht werden [9]. Als Test-sera wurden «Zeus Scientific's FLUORO-CEPTM (Estrogen) und (Progesterone) reagents» verwendet. Ersteres enthält ein 17- β -estradiol-6-carboximethyl-oxime-bovine serum albumin-fluorescein isothiocyanate; letzteres ein 11-hydroxy-progesteron-hemisuccinate – bovine – serum – albumin – tetramethyl-rhodamine-isothiocyanate. Als

östrogen- bzw. progesteronrezeptor-positiv wurde in Anlehnung an Lee [10] ein Tumor dann eingestuft, wenn mehr als 50% der Tumorzellen eine Fluoreszenz zeigten.

Ergebnisse

Bei 70 von 157 Östrogenrezeptorbestimmungen, also bei ca. 45%, waren die Ergebnisse völlig konträr. Im Detail wurde bei 47 Patienten biochemisch ein positiver und histochemisch ein negativer Östrogenrezeptorbefund erstellt, und bei 23 Patienten war es genau umgekehrt (siehe Tabelle I). Ein ähnlicher Trend zeichnet sich bei den Progesteronrezeptorbefunden ab, wo bisher eine Diskrepanz von ca. 50% nachzuweisen war (15 von 29 Bestimmungen) (siehe Tabelle II).

Schlußfolgerungen und Diskussion

Bisherige zum Teil theoretische Untersuchungen [11, 12] lassen es als höchst zweifelhaft erscheinen, daß mit histochemischen Methoden überhaupt der Hormonrezeptor nachgewiesen werden kann. Nicht die Rezeptorbindung, sondern andere Bindungsphänomene dürften zur Anfärbung der Zellen bzw.

Tabelle I. Vergleich zwischen biochemischem (ERBC) und histochemischem (ERHC)

Östrogenrezeptorbefund

Pat.-Zahl	ERBC	ERHC
47	+	
73	+	+
23	+	
14		

Tabelle II. Vergleich zwischen biochemischem (PgRBC) und histochemischem (PgRHC)

Progesteronrezeptorbefund

Pat.-Zahl	PgRBC	PgRHC
7	+	
8	+	+
8	-	+
5		

zur Akkumulation des markierten Hormons in den Zellen führen. Im Gegensatz zu einer früheren vergleichenden Untersuchung zwischen den beiden Bestimmungsmethoden [13] erhärten unsere Ergebnisse obige Thesen. Dies bedeutet jedoch nicht unbedingt, daß nicht vielleicht doch hormonempfindliche Tumorzellen nachgewiesen werden. Es müssen weitere Studien über das Ansprechen fortgeschrittener Mamma-karzinome auf hormontherapeutische Maßnahmen abgewartet werden, um eine endgültige Aussage über den Wert der histochemischen Methode treffen zu können. Wir folgern daraus, daß auch aus den weiter oben angeführten Gründen (nämlich einerseits Prognoseerstellung und andererseits Entscheidungshilfe bei der Wahl von palliativen wie adjuvanten Systemtherapien) die Steroidrezeptorbestimmung zumindest gleich wichtig wie die histologische Typisierung des Karzinoms ist, und ein Verzicht auf die biochemische bzw. quantitative Bestimmungsmethode zugunsten der histochemischen vorerst sicher nicht gerechtfertigt erscheint.

Literatur

Croton, R.; Cooke, T.; Holt, S., et al.: Oestrogen receptors and survival in early breast cancer. Br. med. J. 283: 1289-1291 (1981).

Heise, E.; Gorlich, M.: Estradiol receptor activity in human breast cancer, disease free interval and survival time. Anticancer Res. 2: 33-36 (1982).

Stewart, J.F.; King, R.J.B.; Winter, P.J., et al.: Oestrogen receptors, clinical features and prognosis in stage III breast cancer. Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 18: 1315-1320 (1982).

Heuson, J.C.; Longeval, E.; Mattheiem, W.H.; Deboel, M.C.; Sylvester, R.J.; Leclercq, M.S.; Leclercq, G.: Significance of quantitative assessment of estrogen receptors for endocrine therapy in advanced breast cancer. *Cancer* 39: 1971-1977 (1977).

Campbell, F.C.; Blarney, R.W.; Elston, C.W., et al.: Quantitative oestradiol receptor values in primary breast cancer and responses of metastases to endocrine therapy. *Lancet* i: 8259: 1317-1319 (1981).

Korenmann, S.G.; Dukes, B. A.: Specific estrogen binding by the cytoplasm of human breast carcinoma. *J. clin. Endocr. Metab.* 30: 639 (1970).

Wittliff, J.L.: Steroid-hormone receptors in breast cancer. *Cancer* 53: 630-643 (1984).

Scatchard, G.: The attractions of proteins for small molecules and ions. *Proc. natn. Acad. Sci. USA* 51: 660-672 (1979).

Lee, S.H.: Cytochemical study of estrogen receptor in human-mammary cancer. *Am. J. clin. Path.* 70: 197-203 (1978).

Lee, S.H.: Cancer cell estrogen receptor of human mammary carcinoma. *Cancer* 44: 1-12 (1979).

Daxenbichler, G.; Weiß, P.; Piegger, E.: Critical evaluation of histochemical «receptor» assays; in Kaiser (ed.), XI. International Congress of Clinical Chemistry (de Gruyter & Co., Berlin, New York 1982).

Tomimaga, T; Kitamura, M.; Saito, T, et al.: Comparative histochemical and biochemical assays of estrogen receptors in breast cancer patients. *Gann* 72: 60-65 (1981).

Pertschuk, L.P.; Gaetjens, E.; Carter, A.C.; Brigati, D.J.; Kim, D. S.; Fealey, T. E.: An improved histochemical method for detection of estrogen receptors in mammary cancer. Comparison with biochemical assay. *Am. J. clin. Path.* 71: 504-508 (1979).